

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2002年12月12日 (12.12.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/099408 A1(51) 国際特許分類: G01N 27/30,
27/416, 33/483, C12M 1/34, C12Q 1/34大字門真1006番地 Osaka (JP). 学校法人立命館 (THE
RITSUMEIKAN TRUST) [JP/JP]; 〒603-8577 京都府
京都市 北区等持院北町5番地の1 Kyoto (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/05569

(72) 発明者: および

(22) 国際出願日: 2002年6月5日 (05.06.2002)

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 岡弘章 (OKA, Hi-
roaki) [JP/JP]; 〒573-1194 大阪府 枚方市 中宮北町
3-10 枚方ガーデンヒルズ 913号室 Osaka (JP).
尾崎 直彦 (OZAKI, Nobuhiko) [JP/JP]; 〒630-0239 奈
良県 生駒市 青山台 342-6 Nara (JP). 杉原 宏和
(SUGIHARA, Hirokazu) [JP/JP]; 〒576-0054 大阪府 交
野市 幾野 1-10-6 30 Osaka (JP). 小西 稔 (KON-
ISHI, Satoshi) [JP/JP]; 〒520-0112 滋賀県 大津市 日吉
台 1-16-4 Shiga (JP).

(25) 国際出願の言語: 日本語

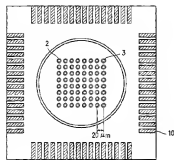
(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2001-170340 2001年6月5日 (05.06.2001) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 松下電
器産業株式会社 (MATSUSHITA ELECTRIC INDUS-
TRIAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒571-8501 大阪府 門真市(74) 代理人: 山本 秀策, 外 (YAMAMOTO, Shusaku et al.);
〒540-6015 大阪府 大阪市 中央区城見一丁目2番27号
クリスタルタワー15階 Osaka (JP).

[続表有]

(54) Title: SIGNAL DETECTING SENSOR PROVIDED WITH MULTI-ELECTRODE

(54) 発明の名称: マルチ電極を備えた信号検出用センサ



(57) Abstract: A sensor for simply and quickly measuring the electric activities of many cells at a time, and a device provided with this sensor and capable of detecting signal transfers between cells to be sampled. The sensor, provided with a plurality of electrodes disposed on a substrate, individually measures each of signals produced by biological samples each held by each electrode. Each of these electrodes comprises a biological sample-holding dent, a through hole communicating with the dent and penetrating to the rear surface of the substrate, an electrode element, and a lead wire from the electrode element, each of these electrodes being disposed so that samples each held in each dent are electrically linked with one another.

(57) 要約:

簡便かつ迅速に、多数の細胞の電気的活動を一度に測定するセンサ、およびこのセンサを備え、被験体細胞間の信号伝達を検出し得るデバイスを提供する。上記センサは、基板上に配置された複数の電極を備え、これら電極の各々に保持される生体試料が発生する信号の各々を別個に測定する。これら電極の各々は、生体試料を保持するための窪み、該窪みと連通し該基板の裏面に貫通する貫通孔、電極部、および該電極部からの導出線を備え、ここで、これら電極の各々は、該窪みの各々に保持された試料が互いに電氣的に連絡するように配置されている。



(81) 指定国/国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

国際調査報告書

(84) 指定国/広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明細書

マルチ電極を備えた信号検出用センサ

5 技術分野

本発明は、生体試料の電気生理学的特性を測定するセンサに関する。本発明は、また神経細胞ネットワークを人工的に再構成し得るセンサデバイス、および簡易および高速な薬品スクリーニングに適用可能なセンサデバイス、ならびにこのセンサを備えた、細胞間ネットワーク解析装置および薬品スクリーニング装置に関する。

10

背景技術

薬品に曝された細胞の電氣的活動を測定することによって薬品をスクリーニングすることが行われている。細胞の電氣的活動は、通常、パッチクランプ法、蛍光色素または発光指示薬を用いる方法などによって測定されている。

15

パッチクランプ法は、マイクロピペットの先端部分につけた細胞膜の微小部分（パッチ）を用いて、単一のチャネルタンパク質分子を介するイオンの輸送を電氣的に記録する方法である。パッチクランプ法は、細胞生物学の技術の中で、1個のタンパク質分子の機能をリアルタイムで調べることでできる数少ない方法の1つである（細胞の分子生物学、第3版、Garland Publishing, Inc.、New York、1994、日本語版、中村桂子ら監訳、181～182頁、1995年、教育社）。細胞の電氣的活動はまた、特定のイオンの濃度変化に応じて光を発する発光指示薬または蛍光色素と、最新の画像処理法とを組み合わせ（例えば、細胞の蛍光画像をCCDカメラなどで撮影して、細胞内のイオンの移動をモニタする）で測定されている。

20

25

しかし、パッチクランプ法は、マイクロピペットの作製などに特殊な技術を必

要とし、しかも大量の薬品候補化合物を高速でスクリーニングするには適していない。また、蛍光色素などを利用する方法は、大量の薬品候補化合物を高速でスクリーニングできるが、細胞を染色する工程が必要であり、測定において、色素の影響によるバックグラウンドが高い上に、時間とともに脱色するためS/N比が悪いという欠点があった。細胞電位測定において、パッチクランプ法で得られるデータと同等の質のデータが得られ、しかも蛍光色素法のように簡易にしかも高速、自動で行えるデバイスが要望されている。

本発明は、上述のような従来の細胞の電気活動測定装置を改良し、簡便かつ迅速に、多数の細胞の電気的活動を一度に測定し得るセンサ、および被験体細胞間の信号伝達をも検出し得るデバイスを提供することを目的とする。

発明の開示

本発明者らは、マイクロマシン技術を用い、直径または一辺が0.5～5mmの範囲の基板デバイスに微小な孔を形成し、従来のパッチクランプ法に近い精度で、多数の試料を一度に測定できる電気生理学的測定デバイスを実現した。

本発明は、基板上に配置された複数の電極を備え、この電極の各々に保持される生体試料が発生する信号の各々を別個に測定するセンサに関する。

上記電極の各々は、生体試料を保持するための窪み、この窪みと連通し上記基板の裏面に貫通する貫通孔、電極部、およびこの電極部からの導出線を備え、電極の各々は、上記窪みの各々に保持された試料が互いに電氣的に連絡するように配置されている。

好ましくは、上記信号は、上記複数の電極の1つに保持される生体試料に与えられた刺激に応答する信号である。

好ましくは、上記複数の電極の各々は、その中心が互いに少なくとも20μmの間隔を置いて配置されている。

好ましくは、上記基板は、シリコンウエハ、テフロン、ポリスチレン、ポリカ

ーボネート、ポリエチレンテレフタレート、ポリイミド、アクリル、シリコンゴム、PMD Sおよびエラストマーからなる群から選択される材料から作製される。

好ましくは、上記電極部は、金、白金、塩化銀、および銀、白金黒、ITOからなる群から選択される材料から作製される。

- 5 好ましくは、上記生体試料を保持するための窪みは、1～10 μm の深さ、および10～50 μm の開口部直径を有し、かつ上記貫通孔の直径は2～10 μm である。

- 好ましくは、上記生体試料は神経細胞であって、上記電極の各々に保持される神経細胞は、上記複数の電極の配置に従って神経細胞のネットワークを再構成し
10 ている。

好ましくは、上記刺激は、上記複数の電極の少なくとも1つの電極部を通じて与えられる。

好ましくは、上記センサは、上記電極に対する対極をさらに備え、上記生体試料が神経細胞であるとき、この神経細胞の膜電位を固定し得る。

- 15 好ましくは、上記センサは、基準電極をさらに備える。

好ましくは、上記基準電極は、線幅1～1000 μm のリボン状部材から作製される直径100～1000 μm のリング状電極である。

好ましくは、上記電極部および前記導出線は、上記基板の裏面にパターンニングされて該基板の周縁に引き出される。

- 20 好ましくは、上記センサは、上記複数の電極内に前記生体試料を密着して保持させる手段をさらに備える。

好ましくは、上記生体試料を密着して保持させる手段は吸引ラインである。

好ましくは、上記センサは、上記生体試料を密着して保持させる手段を制御する手段を備える。

- 25 本発明はまた、上記センサ、このセンサ上に配置される細胞収容手段、この細胞収容手段が配置されたセンサを細胞増殖条件に維持する手段、上記センサの

各々の電極に前記試料を密着して保持させる手段、上記センサの各々の電極からの電気的信号を得る手段、および該電気信号を処理する手段を備える、細胞間ネットワーク解析装置に関する。

5 本発明はまた、上記センサ、このセンサ上に配置される細胞収容手段、この細胞収容手段が配置されたセンサを細胞増殖条件に維持する手段、および上記細胞収容手段が配置されたセンサを移動する手段、上記センサの各々の電極に上記試料を密着して保持させる手段、上記センサの各々の電極からの電気的信号を得る手段、およびこの電気信号を処理する手段を備える、高速薬品スクリーニング装置に関する。

10 本発明のセンサは、上記構成を有することにより、通常の細胞外記録では不可能であった、イオンチャンネルの開閉に伴うノイズの検出を可能とし、センサ上に人工的に再構成された神経細胞ネットワークにおける信号伝達の解析をも可能にした。

15 図面の簡単な説明

図1は、本発明のセンサの測定原理および構造を、従来の微小電極を用いたセンサと比較して示す図である。図1の右は、本発明のセンサの構造の一部を示し、図1の左は、従来の微小電極を用いたセンサを示す。

図2は、本発明のセンサの平面図である。

20 図3は、本発明のセンサの平面図、およびセンサの一部である電極の構造を拡大して示す、電極の平面図、断面図、および裏面図である。

図4は、本発明のセンサの改変例の概略を示す平面図、およびセンサの一部である電極の構造を拡大して示す、電極の断面図である。

図5は、本発明のセンサの改変例の概略を示す断面図である。

25 図6は、本発明のセンサの改変例の概略を示す断面図である。

図7は、本発明のセンサの改変例の概略を示す断面図である。

図 8 は、本発明の細胞間ネットワーク解析装置の構成を示す概略図である。

図 9 は、本発明の細胞電位測定用デバイスを用いて行った試験結果を示す図である。

5 図 10 は、本発明の細胞電位測定用デバイスを用いて行った試験結果を示す図である。

図 11 は、本発明の細胞電位測定用デバイスを用いて行った試験結果を示す図である。

なお、上記図 1 ～ 11 中に示される参照番号は、各々以下の部材を示す。

1 基板、2 細胞収容手段、3 窪み、5 孔の開口部、7 孔、8 配線、
10 9 測定電極、10 基板ターミナル部、11 基準電極、15 吸引ライン、
20 20 吸引ラインアタッチメント、A 培養装置、B 移動手段、C 信号検出装置、D 信号導出ケーブル、E 信号処理部、

発明を実施するための最良の形態

15 図 1 に、本発明のセンサによる測定原理および電極構造の概略を模式的に示す。
基板 1 上に配置された円筒状の器 2 には培養液が入れられ、細胞などの生体試料が収容される。図 1 の左は、その上に細胞を載せた従来の平板型微小電極 6 を備えた電極構造、そして図 1 の右は本発明の電極構造の一例であり、円筒状の器 2 の中央に楕円で示される被験体細胞は、基板 1 に設けられた細胞保持手段の一部
20 である窪み 3 に捕捉または保持されている。この細胞保持手段は、基板 1 に形成された窪み 3、開口部 5 を通じてこの窪み 3 に連通する貫通孔 7、および吸引ライン（図示せず）を備えている。

図 1 の右に示す例では、貫通孔 7 の中に、信号検出手段である測定電極 9 が配置されて示されている。測定電極 9 は、配線 8 を経て信号検出部（図示せず）に
25 連結される。貫通孔 7 は、吸引ポンプなどの吸引手段に連絡する吸引部分の一部を形成して、細胞の吸引手段（図示せず）と連結され、この細胞の吸引手段は、

上記窪み3に保持された細胞の細胞膜と基板1とを、この窪み3内にある細胞膜を介して得られる電気的信号が、図中の矢印で示されるように、ウェル中の培養液に漏れないように密着して保持するように吸引する。

5 なお、本明細書では、上記のような基板上に配置された窪みとこの窪みを連通する貫通孔に配置された測定電極を備える構造の単位を「電極」または「電極構造」と定義し、このような「電極」構造に加え、それを支持する基板、細胞を収容する部材、電極に接続された導出線などを備えるデバイスの構成を「センサ」と定義する。

10 図1の右に示す例では、窪み3の開口部に細胞の一部がはまり込んで示されている。この細胞と基板1とが密着して保持されることによって、細胞から発生する電気的信号が培養液4中に漏れることはない。その一方、図1の左に示す従来例の平板型微小電極では、図中矢印で示されるように、細胞から発せられた電気的信号は、ほとんど培養液4中に漏れてしまい、信号検出感度が著しく低くなる。

15 図1の右に示す電極構造では、必要に応じて基準電極がさらに設置され、測定電極9は、この基準電極に付与される基準電位を対照として、細胞の電気信号を測定する。通常、この基準電極は、その断面が約100 μ m～約1000 μ mの直径の金、白金、銀-塩化銀などの材料の線材であるが、必要に応じて任意の大きさおよび形状であり得る。また、この基準電極は、必要に応じてウェルあたり1つ以上設置され、それによって細胞電位の測定精度を向上し得る。

20 このような、窪みを1つ以上備えたセンサは、従来のマイクロマシン技術により形成される。

(実施の形態)

25 図2に本発明のセンサの実施の形態の一例を示す。図2は、本発明の実施の形態の一例の平面図である。この実施の形態では、開口部の直径が約10 μ mである窪みを備えた電極が、その中心が各々約20 μ mの間隔で、8行×8列のマトリックス状に配置されている。参照番号2は、電極上に配置される培養液および

を細胞を収容するための器である。基板（サイズ30mm×30mm）の周縁には、各電極の測定電極から導出され、そして他の電極または配線と絶縁された合計64個の基板ターミナル部10が設けられている（なお、導出線は図示していない）。

- 5 図3は、本発明のセンサの実施の形態一例の電極構造を拡大して示す図である。図示される例では、個々の電極は、開口部の直径が約10 μ mの窪み3を備え、測定電極（本明細書では電極の電極部ともいう）9は、基板の裏面にスパッタなどによってバタニングされて、信号導出線8を通して、基板の周縁に引き出される。窪みの底面の中央部には、その開口部の直径が約3 μ mの貫通孔7が設けられて示される。図3の右に示す3つの図は、センサを構成する電極の1つの拡大図であって、図3の左に点線で囲ったAで示す部分を拡大して示し、上から順にその平面図、窪み3の中央を通る直線に沿った断面図および裏面図である。
- 10

- 図4もまた、本発明のセンサの実施の形態の一例を示す。この実施の形態では、電極には、1つの測定電極9、1つの窪み3および貫通孔7が設けられ、測定電極9は、この貫通孔7と接触するように、SOI基板の裏面にバタニングされている。生体試料を収容する器の壁には、線幅100 μ mのリボン状部材から作製される直径100 μ mのリング状の基準電極11が配置されている。
- 15

- 図5は、基準電極が細胞を収容する器内に配置される例を、図6は、基準電極が細胞を収容する器の壁の一部の上および器の底部に配置される例を示す。基準電極の形態および配置は、測定の実施および測定対象となる生体試料に応じて適宜選択された形態をとり得る。
- 20

- 基準電極は、測定電極に対する対極として作用し、保持した細胞の膜電位を固定（細胞膜の電位を任意の値に設定）し得る。また、基準電極と、測定電極との間に微弱な電気パルス（例えば、100Hzの分極パルス）を付与し、ウェル内に保持された細胞の細胞膜のイオン透過性を向上させ得る。
- 25

 図7は、本発明の、吸引ライン15を備えたセンサの実施の形態を示す。吸引

ライン15は、基板の裏面に配置される吸引ラインアタッチメント20内に形成されており、アスピレーターなどの吸引手段（図示せず）に連結されて、細胞と、電極構造との密着性を向上し得る。吸引ラインアタッチメント20は、代表的には、アクリル、PMDS、シリコンゴムなどの材料から作製され、測定電極を覆って基板の裏面に接着される。

なお、本発明のセンサの裏面の、測定電極の近傍の空間には、吸引手段によって引き込まれる電解液（通常Krebs ringer溶液）だけが存在する。従って、本発明のセンサの裏面に存在する電解質溶液は、貫通孔を満たしている電解質溶液に加え、多くとも1~10 μ l程度である。さらに、測定電極で細胞の電気的変化を検出し得る限り、特に吸引系全体を電解液で満たす必要はない。

本発明の上記のセンサを組み込んだ、細胞間ネットワーク解析装置または高速薬品スクリーニング装置の構成例を模式的に図8に示す。図8中の構成は、以下の通りである。A：細胞収容手段を配置したセンサを細胞増殖条件に維持する培養装置である。被検対象である生物試料の増殖および維持に適した環境を提供する。B：培養装置からセンサを移動する手段であって、このセンサを信号検出装置Cに搬入する。例えば、ロボットアームを採用し得る。C：信号検出装置。被検薬液を注入または排出する手段、例えば、試薬分注マルチピペット、上記のマルチ電極を備えたセンサ、アスピレーターまたは吸引ポンプなどから構成される。D：信号導出ケーブル、E：信号処理装置（コンピュータ）。

なお、上記の各構成要素間の連結は、当該分野で公知の手段を用いて行うことができ、特に詳細は説明しない。

本発明の上記のセンサを組み込んだ細胞間ネットワーク装置は、上記センサと、上記センサ上に配置される細胞収容手段と、細胞増殖条件を維持する手段と、上記センサの各々の電極に上記試料を密着して保持させる手段と、上記センサの各々の電極からの電気信号を得る手段と、この電気信号を処理する手段とを備え得る。

上記細胞間ネットワーク装置は、さらに、上記センサ上の任意の電極に電流を印加する刺激印加手段、および上記センサ上で培養された細胞の状態を表示する顕微鏡または撮像手段を備え得る。上記細胞収容手段は、通常、細胞維持のための溶液を保持する。

- 5 上記細胞増殖条件を維持する手段は、通常、その細胞を収容する環境を、細胞増殖に最適となる温度、湿度、pH、ガス組成となるように維持する。上記電気信号を処理する手段は、通常、上記センサの各電極からの信号を取得する。

- 本発明の上記センサを組み込んだ高速薬品スクリーニング装置は、上記センサと、上記センサ上に配置される細胞収容手段と、細胞増殖条件を維持する手段と、
10 上記細胞収容手段が配置されたセンサを移動する手段と、上記センサの各々の電極に上記試料を密着して保持させる手段と、上記センサの各々の電極からの電気信号を得る手段と、この電気信号を処理する手段とを備え得る。

 上記高速薬品スクリーニング装置は、さらに、上記センサ上の任意の位置にある上記細胞収容容器に溶液を注入または排出する手段を備え得る。

- 15 上記細胞収容手段は、通常、細胞を維持するための溶液を保持する。上記細胞増殖条件を維持する手段は、通常、その細胞を収容する環境を、細胞増殖に最適となる温度、湿度、pH、ガス組成となるように維持する。

 上記電気信号を処理する手段は、通常、上記センサの各電極からの信号を個別に取得し、そして統計処理する。

20

実施例

 実施例により本発明を説明する。以下の実施例は本発明の例示であって、本発明を制限するものではない。

(実施例1)

- 25 胎生17日目のラット大脳皮質より神経細胞を調製し、ダルベッコ変法培地に懸濁し、図3に示す64個の電極および器を備えるセンサの器のそれぞれに5×

10⁵細胞／m l の濃度になるように添加し、そして2週間培養することによりセンサ上に人工的神経細胞ネットワークを再構成した。

この再構成された神経細胞ネットワークを含むセンサを、図8に示す構成の装置を用い、64個の電極の1つ（図9に示す（5行、6列）目の電極）にその電極部を通じて定電圧刺激（50 μ V）を印加することにより、センサ上の一つの細胞に定電圧刺激を印加し、その刺激の伝達を、残りの63個の電極で細胞電位を検出することにより測定した。

結果を図9に示す。図9は、信号処理装置（コンピュータ画面）のハードコピーである。図9に示したように円で囲んだチャンネル、つまり63個の電極中24個の電極において連動した信号の伝達が観察され、神経細胞ネットワークが再構成されていることが確認された。

（実施例2）

図10に示すように（5行、5列）目の電極に定電圧刺激を印加したことを除いて実施例1と同様に、刺激の伝達を、残りの63個の電極で細胞電位を検出することにより測定した。その結果、図10に示したように、63個中38個に連動した信号の伝達が観察された。

（実施例3）

実施例1および2と同様に再構成した神経細胞ネットワークを、40 μ MのDNQX（6, 7-Dinitroquinoxaline-2, 3（1H, 4H）-dione）で10分間処理した。実施例2と同様に、センサ上の一つの細胞に定電圧刺激を印加し、その刺激の伝達を、残りの63個の電極で細胞電位を検出したところ、いずれの電極においても応答は観察されなかった（図11）。これは、DNQXにより、定電圧刺激に伴うシナプスを介した反応を完全にブロックされたことを示す。

以上の3つの実施例の結果から、本発明のセンサは、人工的に再構成された神経細胞ネットワークにおける信号伝達を測定できることが示された。さらには、

本発明のセンサは、細胞の膜電位を固定することにより、細胞の電位感受性イオンチャンネルの開閉頻度も測定できることを可能にした。

産業上の利用可能性

- 5 簡便かつ迅速に、多数の細胞の電氣的活動を一度に測定し得るセンサ、および被験体細胞間の信号伝達をも検出し得るデバイスが提供される。

- 本発明のデバイスは、従来の高度な技術を要するパッチクランプ法や試験工程が多くS/N比の悪い蛍光色素法の欠点を克服する。本発明のデバイスを利用することにより、簡単に高速で薬品候補化合物をスクリーニングできる装置を提供
- 10 し、従来の薬品スクリーニングに要していた時間を劇的に短縮できる。さらに、高度な特殊技術を必要とせず、本装置が自動的にデータ収集と信号処理を行うことから、誰にでも簡単に細胞電位測定を行うことができる。

請求の範囲

1. 基板上に配置された複数の電極を備え、該電極の各々に保持される生体試料が発生する信号の各々を別個に測定するセンサであって、
- 5 該電極の各々が、生体試料を保持するための窪み、該窪みと連通し該基板の裏面に貫通する貫通孔、電極部、および該電極部からの導出線を備え、
- 該電極の各々が、該窪みの各々に保持された試料が互いに電氣的に連絡するように配置されている、センサ。
- 10 2. 前記信号が、前記複数の電極の1つに保持される生体試料に与えられた刺激に応答する信号である、請求項1に記載のセンサ。
3. 前記複数の電極の各々は、その中心が互いに少なくとも $20\mu\text{m}$ の間隔を置いて配置される、請求項1に記載のセンサ。
- 15 4. 前記基板が、シリコンウエハ、テフロン、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリエチレンテレフタレート、ポリイミド、アクリル、シリコンゴム、PMDSおよびエラストマーからなる群から選択される材料から作製される、請求項1に記載のセンサ。
- 20 5. 前記電極部が、金、白金、塩化銀、および銀からなる群から選択される材料から作製される、請求項1に記載のセンサ。
6. 前記生体試料を保持するための窪みが、 $1\sim 10\mu\text{m}$ の深さ、および $10\sim 50\mu\text{m}$ の開口部直径を有し、かつ前記貫通孔の直径が $2\sim 10\mu\text{m}$ である、請求項1に記載のセンサ。
- 25

7. 前記生体試料が神経細胞であって、前記電極の各々に保持される神経細胞が、前記複数の電極の配置に従って神経細胞のネットワークを再構成している、請求項1に記載のセンサ。

5

8. 前記刺激が、前記複数の電極の少なくとも1つの電極部を通じて与えられる、請求項2に記載のセンサ。

9. 前記電極に対する対極をさらに備え、前記生体試料が神経細胞であるとき、該神経細胞の膜電位を固定し得る、請求項1に記載のセンサ。

10

10. 基準電極をさらに備える、請求項7に記載のセンサ。

11. 前記基準電極が、線幅1~1000 μ mのリボン状部材から作製される直径100~10000 μ mのリング状電極である、請求項10に記載のセンサ。

15

12. 前記電極部および前記導出線が、前記基板の裏面にパターニングされて該基板の周縁に引き出される、請求項1に記載のセンサ。

13. 前記複数の電極内に前記生体試料を密着して保持させる手段をさらに備える、請求項1に記載のセンサ。

20

14. 前記生体試料を密着して保持させる手段が吸引ラインである、請求項13に記載のセンサ。

25

15. 前記生体試料を密着して保持させる手段を制御する手段を備える、請求

項 1 4 に記載のセンサ。

1 6. 請求項 1 に記載のセンサ、該センサ上に配置される細胞収容手段、該細胞収容手段が配置されたセンサを細胞増殖条件に維持する手段、該センサの各々の電極に前記試料を密着して保持させる手段、該センサの各々の電極からの電気的5 信号を得る手段、および該電気信号を処理する手段を備える、細胞間ネットワーク解析装置。

1 7. 請求項 1 に記載のセンサ、該センサ上に配置される細胞収容手段、該細胞収容手段が配置されたセンサを細胞増殖条件に維持する手段、および該細胞収容手段が配置されたセンサを移動する手段、該センサの各々の電極に前記試料を密着して保持させる手段、該センサの各々の電極からの電気的10 信号を得る手段、および該電気信号を処理する手段を備える、高速薬品スクリーニング装置。

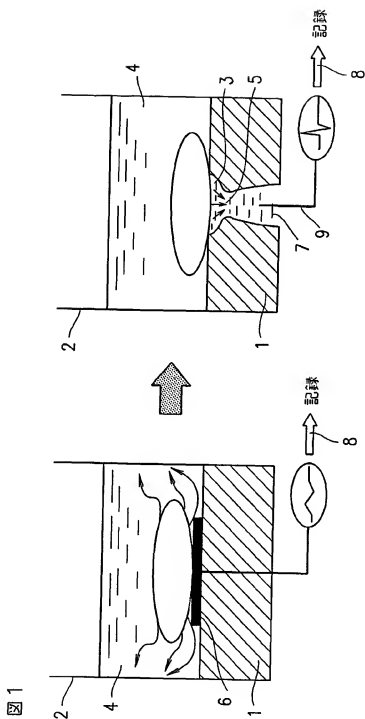
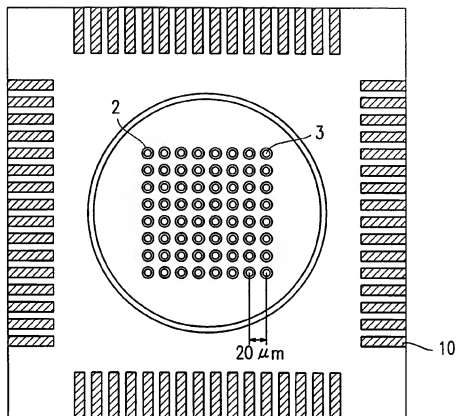


図 2



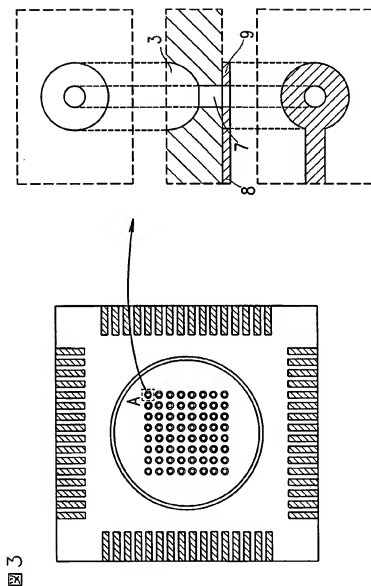


图 4

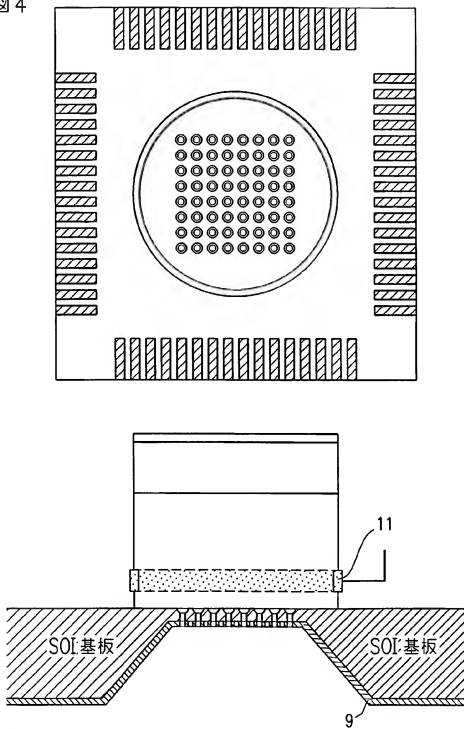


图 5

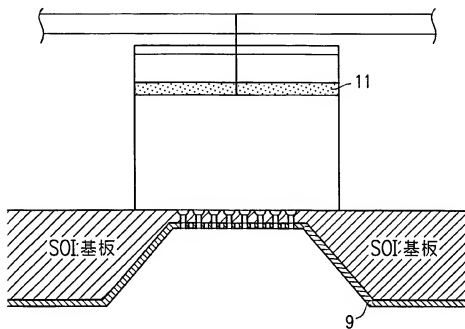


図 6

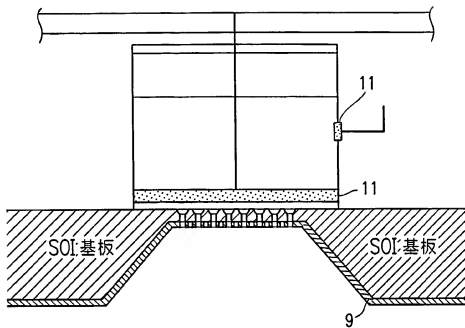


図 7

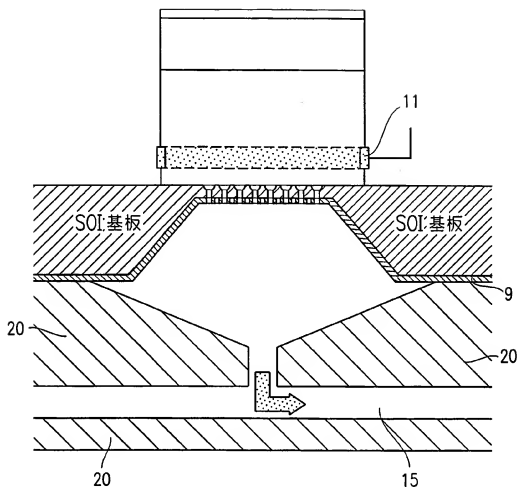
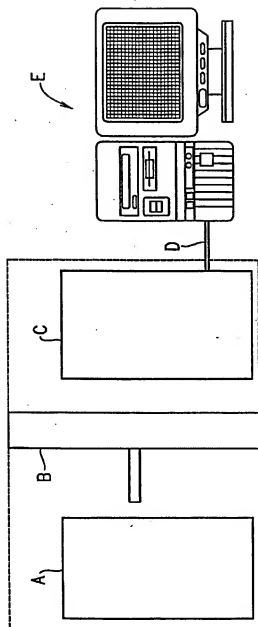
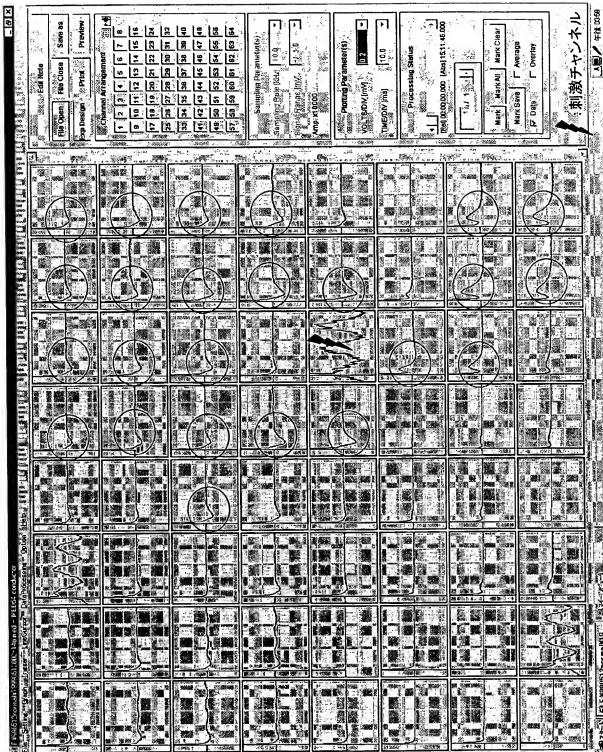
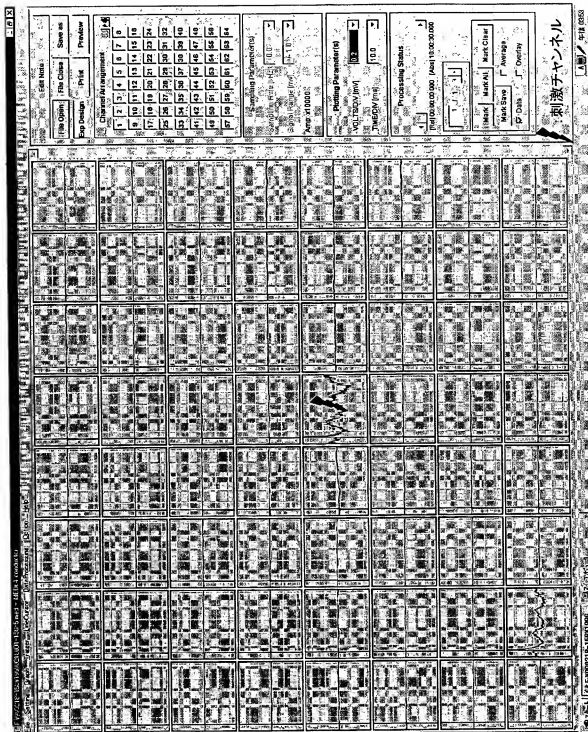


図 8







INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/05569

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N27/30, 27/416, G01N33/483, C12M1/34, C12Q1/34

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N27/00-27/49, G01N33/483, C12M1/34, C12Q1/34

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2002
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2002	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2002

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JICST FILE (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 9-289886 A (Shimadzu Corp.), 11 November, 1997 (11.11.97), Full text; Figs. 1 to 2 (Family: none)	1-17
A	JP 6-296595 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 25 October, 1994 (25.10.94), Full text; Figs. 1 to 7 & EP 585933 A & US 5810725 A	1-17
A	JP 11-187865 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 13 July, 1999 (13.07.99), Full text; Figs. 1 to 12 & WO 99/34202 A1 & EP 1040345 A & CN 1284166 T	1-17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle of theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
05 July, 2002 (05.07.02)Date of mailing of the international search report
06 August, 2002 (06.08.02)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/05569

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 6-78889 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 22 March, 1994 (22.03.94), Full text; Figs. 1 to 3 & EP 585933 A2	1-17
A	JP 8-122326 A (Fujitsu Ltd.), 17 May, 1995 (17.05.96), Full text; Figs. 1 to 2 (Family: none)	1-17
A	WO 99/28037 A (Micronas GmbH.), 10 June, 1999 (10.06.99), Full text; Figs. 1 to 5 & JP 2001-524329 A	1-17
A	WO 99/64559 A (HÄNNI Claude), 16 December, 1999 (16.12.99), Full text; Figs. 1 to 4 & JP 2002-517225 A	1-17
A	Hirokazu SUGIHARA, Yasushi KOBAYASHI, Makoto TAKETANI, "Saibo Den'i Sokutei System oyobi Daino Hishitsu Hattatsu Katei Kenkyu heno Oyo", 1996, National Technical Report, Vol.42, No.2, pages 112 to 119	1-17

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ G01N27/30, 27/416, G01N33/483, C12M1/34, C12Q1/34

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ G01N27/00-27/49, G01N33/483, C12M1/34, C12Q1/34

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年

日本国公開実用新案公報 1971-2002年

日本国登録実用新案公報 1994-2002年

日本国実用新案登録公報 1996-2002年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 9-289886 A(株式会社島津製作所) 1997.11.11 全文、第1-2図 (ファミリーなし)	1-17
A	JP 6-296595 A(松下電器産業株式会社) 1994.10.25 全文、第1-7図 & EP 585933 A & US 5810725 A	1-17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

05.07.02

国際調査報告の発送日

06.08.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

黒田 浩一

2J 9218

電話番号 03-3581-1101 内線 3250

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 11-187865 A(松下電器産業株式会社) 1999. 07. 13 全文、第1 - 12図 & WO 99/34202 A1 & EP 1040345 A & CN 1284166 T	1-17
A	JP 6-78889 A(松下電器産業株式会社) 1994. 03. 22 全文、第1 - 3図 & EP 585933 A2	1-17
A	JP 8-122326 A(富士通株式会社) 1996. 05. 17 全文、第1 - 2図 (ファミリーなし)	1-17
A	WO 99/28037 A(Micronas Gmbh) 1999. 06. 10 全文、第1 - 5図 & JP 2001-524329 A	1-17
A	WO 99/64559 A(HANNI Claude) 1999. 12. 16 全文、第1 - 4図 & JP 2002-517225 A	1-17
A	杉原宏和、小林康、竹谷誠、細胞電位測定システムおよび大脳皮 質発達過程研究への応用、1996、National Technical Report, Vol. 42, No. 2, pages 112-119	1-17